

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/EP05/050332

International filing date: 26 January 2005 (26.01.2005)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: DE
Number: 10 2004 004 653.0
Filing date: 29 January 2004 (29.01.2004)

Date of receipt at the International Bureau: 24 February 2005 (24.02.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND



Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

Aktenzeichen:

10 2004 004 653.0

Anmeldetag:

29. Januar 2004

Anmelder/Inhaber:

Siemens Aktiengesellschaft, 80333 München/DE

Bezeichnung:

Elektrochemisches Transducer-Array und dessen
Verwendung

IPC:

G 01 N 27/26

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 8. Dezember 2004
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

Agurka

Beschreibung

5 Elektrochemisches Transducer-Array und dessen Verwendung

Die Erfindung bezieht sich auf ein elektrochemisches Transducer-Array und weiterhin auf spezifische Verwendungen eines solchen Transducer-Arrays.

10

Elektrochemische Transducer werden im allgemeinen in die drei Gruppen potentiometrisch, konduktometrisch und amperometrisch unterteilt. Bei den potentiometrischen Transducern wird das Potenzial gegen eine Referenzelektrode gemessen. Auf dieser

15 Basis funktionieren ionenselektive Sensoren. Dabei wird die Elektrode mit einer ionenselektiven Membran beschichtet. Das Potenzial der Elektrode ist dann ein Maß für die Konzentration der entsprechenden Ionen. Mittels einer gaspermeablen Membran kann so auch ein potentiometrischer pCO_2 -Sensor realisiert werden.

20

Bei den amperometrischen Transducern hingegen wird eine Spannungsdifferenz zwischen zwei Elektroden erzeugt, bei der die zu detektierende Substanz umgesetzt wird. Die bei der Reduktion oder Oxidation fließenden Ströme ergeben das Messsignal. Eine breite Anwendung finden sie als Sauerstoffsensoren oder biochemische Sensoren. Beim Clark-analogen Sauerstoffsensor wird eine gaspermeable Membran auf den amperometrischen Sensor gebracht. Bei den biochemischen Sensoren werden molekulare Erkennungssysteme, z.B. Haptene, Antigene oder Antikörper, auf oder in der Nähe der Elektroden platzieren. Das Zielmolekül bindet daran und wird entweder direkt oder über Zwischenschritte mit einem Enzymlabel versehen. Wird nun das entsprechende Enzymsubstrat zugegeben, setzt das Enzym eine Substanz

30

35

frei, die detektiert werden kann. Dies geschieht entweder optisch oder elektrochemisch. Es handelt sich hier um den sogen-

nannten ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay). Auf ähnlichem Weg lassen sich auch DNA-Analyseverfahren durchführen.

5 Die für die elektrochemische Detektion verwendeten Transducer müssen Elektroden beinhalten, die elektrisch einzeln kontaktiert sind. Im Anwendungsfall des potentiometrischen Transducers muss das sich einstellende Gleichgewichtspotenzial gegen eine Referenzelektrode messbar sein. Bei amperometrischen und
10 konduktometrischen Transducern müssen die Elektroden potentiostatierbar sein und der Stromfluss über die Elektroden muss einzeln erfasst werden können.

Ein Beispiel für planare ionenselektive Sensoren ist in E. Jacobs et al, "Analytical Evaluation of i-STAT Portable
15 Clinical Analyzer and Use by Nonlaboratory Health-Care Professionals", Clinical Chemistry, 39, 1069 ff. (1993) beschrieben. Es handelt sich hier um ein Siliziumsubstrat mit Dünnfilm-Elektroden und ionenselektiven Membranen. Sensorelektroden und Kontakte liegen dabei auf der selben Seite des
20 Silizium-Substrats. Um daher die Kontaktflächen und die Durchflusszelle für den Analyten zu trennen, muss das Substrat deutlich größer sein als die eigentlich von den Sensoren benötigte Fläche.

Ebenfalls in Silizium-Technologie sind vertriebene Biochips gefertigt und in R. Thewes et al., "Sensor Arrays for Fully Electronic DNA Detection on CMOS", ISSCC Digest of Tech. Papers, 2002, 350 ff., beschrieben. Vorteilhaft ist hier die Integration von CMOS-Schaltungstechnik, Signalverarbeitung
30 (Multiplexing) und Analog-Digital-Wandlung in die Sensorplattform selbst. So kann eine hohe Anzahl von Sensoren auf kleinster Fläche realisiert werden. Nachteilig wirken sich die Kosten für die Herstellung eines solchen Chips und die aufwändige Handhabung (Kontaktierung) aus. Für die sogenannten
35 low-density Arrays mit weniger als 100 Sensoren pro Quadratzentimeter sind daher die Kosten pro Einzelsensor hoch.

Eine Alternative bietet theoretisch die Verwendung von Polymerträgern mit aufgebrachtten Elektroden. Diese können aufgedampft oder aufgedruckt sein. Mit dieser Methode lassen sich preisgünstig einzelne Sensoren, z.B. Glucose-Sensoren realisieren [WO2002/02796-A2]. Für Arrays ist sie jedoch weniger geeignet, da die Leiterbahnstrukturen grob sind und daher die Zahl der elektrischen Kontakte stark eingeschränkt ist.

Motorola verwendet im eSensor™ Leiterplattentechnik zur Umsetzung ihres low-density DNA-Detektions-Systems. Dabei werden auf der Metallisierungsebene sowohl die Sensorflächen als auch die Leiterbahnen und Kontakte ausgeführt. Das Produkt ist eine starre Leiterplatte mit Sensoren und Kontakten auf der gleichen Seite. Rückseitige Kontakte sind mit einer Durchkontaktierung zu realisieren. Diese Technik ist bei großtechnischen Fertigungen aber nur teuer umzusetzen.

Ausgehend von obigem Stand der Technik ist es Aufgabe der Erfindung, ein vereinfachtes Transducer-Array vorzuschlagen, das einfach zu handhaben und preiswert in der Herstellung ist.

Die Aufgabe ist erfindungsgemäß durch die Merkmale des Patentanspruches 1 gelöst. Weiterbildungen sind in den abhängigen Ansprüchen angegeben. Bevorzugte Verwendungen des erfindungsgemäßen Transducer-Arrays sind Gegenstand der Ansprüche 27 und 28.

Beim erfindungsgemäßen Transducer-Array ist wenigstens ein flexibles, planares Metallsubstrat vorhanden, auf dem mindestens ein flexibler Isolator mit fester Verbindung von Metalloberfläche und Isolatoroberfläche angeordnet ist. Dabei sind sowohl das Metallsubstrat als auch der Isolator derart strukturiert, dass elektrisch gegeneinander isolierte Metallflächen, die Sensorflächen realisieren, vorliegen.

Besonders vorteilhaft ist bei der Erfindung die gute Handhabbarkeit des Produktes. Es handelt sich um einen Werkstoffverbund der nur 100 μm bis 200 μm dick ist und eine beliebige Fläche einnehmen kann. Dadurch ist das Sensorarray hoch flexibel und kann bei entsprechender Geometrie auf Rollen geführt werden. Der Verbund besteht im einfachsten Fall aus einer Metall- und einer Isolatorschicht. Die Vorderseite des Metallsubstrats ist von dem Isolator bedeckt, wobei nur kleinere Metallflächen frei bleiben, welche die Sensoren darstellen. In der Regel ist es erforderlich, dass die Sensoren im wässrigen Elektrolyten beständig sind und auch eine katalytische Aktivität für die Umsetzung der zu detektierenden chemischen Substanz haben. Um dies zu erreichen, können sie mit Edelmetallen wie Platin, Gold oder Silber beschichtet sein. Einige Flächen können je nach den Erfordernissen der Schaltungstechnik als Referenzelektroden oder Gegenelektroden ausgeführt werden. Insbesondere kann eine mit Silber beschichtete und chlorierte Sensorfläche als Referenzelektrode dienen.

Die Metallschicht kann beidseitig genutzt werden. Die Sensoren liegen wie beschrieben auf der Vorderseite. Die Rückseite dient der Kontaktierung der Sensoren. Dabei ist die Metallschicht so strukturiert, dass jeder Sensor elektrisch von den anderen isoliert ist. Die dadurch entstehende rückseitige Metallfläche, die vorderseitig einem einzelnen Sensor entspricht, ist deutlich größer als die Sensorfläche. Daher kann die Kontaktierung an einer Stelle erfolgen, die nicht direkt unterhalb einer Sensorfläche liegt und von dem Isolator verstärkt ist. Da das Metallsubstrat selbsttragend ist, kann die Rückseitenkontaktierung aber auch unmittelbar unterhalb der Sensorfläche erfolgen, um somit eine besonders platzsparende Ausführungsform zu ermöglichen. Ein vorgeschlagener Weg zur Kontaktierung ist der Einsatz von Nadelkarten, die auch in den Anwendungsbeispielen zum Einsatz kamen.

Bei einem sehr großen bandförmigen Sensorarray ist es möglich die Sensoren nicht alle gleichzeitig zu kontaktieren, sondern

in Form eines Magazins durch die Messvorrichtung zu schieben. Die Nadeln würden automatisch die aktuellen Sensorflächen kontaktieren und das Teilarray eines "Endlosarrays" stünde für die Messungen bereit. Dieses Vorgehen ist insbesondere für die Anwendung bei automatisierter Überwachung von Prozessen wichtig.

Eine wichtige Rolle in der Analytik (z.B. HTS: High Throughput Screening) spielen Titerplatten. Diese enthalten 96 (8*12), 384 (16*24) bzw. 1536 (32*48) Plastikreaktionstöpfchen in den Rastermaßen 9 mm, 4,5 mm bzw. 2,25 mm. Teilweise können in solchen Titerplatten optische Detektionsvorgänge direkt durchgeführt werden. Dazu besitzen die Titerplatten z.B. planare, optisch transparente Böden. Die erfindungsgemäßen Transducer-Arrays können hier vorteilhaft zur elektrochemischen Detektion eingesetzt werden. Dazu werden diese an die äußeren Abmessungen der Titerplatten bzw. an das Raster der Reaktionstöpfchen angepasst. Sie bilden den Boden der Titerplatten, so dass jedem Reaktionstöpfchen mindestens eine Elektrode zugeordnet ist. Aufgrund der rückseitigen Kontaktierungsmöglichkeit der erfindungsgemäßen Transducer-Arrays können alle Elektroden der Titerplatte gleichzeitig kontaktiert und somit ausgelesen werden.

Ein weiterer Vorteil des erfindungsgemäßen Transducer-Arrays vor allem gegenüber der Silizium-Chip-Technologie besteht in der Struktur der Arrayoberfläche. Sie ist nicht eben. Statt dessen befindet sich jeder Sensor in einer Vertiefung, die durch die Dicke des verwendeten Isolators vorgegeben wird. Diese Kavitäten sind besonders geeignet, um Beschichtungen aufzunehmen. Sie können die erwähnten Fänger für die DNA-Analyse enthalten, Antikörper oder selektive Membranen.

In einer speziellen Anwendungsform kann die Kavität sogar ein abgeschlossenes elektrochemisches System darstellen. Dazu wird mindestens eine zweite Elektrode pro Kavität benötigt. Diese kann entweder durch Teilung der Sensorfläche gebildet

werden oder durch die Einführung einer weiteren Elektrode, die als Deckel über die Kavität gelegt wird. Wobei dieser Deckel kein fester Bestandteil des Sensorarrays ist, da zunächst der Analyt in die Kavität eingebracht werden muss. Er kann z.B. ebenfalls als Band mit dem Sensorarray zusammengeführt werden. Der Vorteil einer solchen geschlossenen Anordnung liegt darin, dass die zu detektierende Substanz in der Kavität eingeschlossen ist. Sie kann weder wegdiffundieren und damit das Signal schwächen, noch an einen anderen Sensor gelangen und dort ein falsches Signal auslösen.

Weitere Einzelheiten und Vorteile der Erfindung ergeben sich aus der nachfolgenden Figurenbeschreibung von Ausführungsbeispielen anhand der Zeichnung in Verbindung mit den Patentansprüchen.

Es zeigen jeweils in schematischer Vereinfachung

Figur 1 und 2 Vorder- und Rückseite eines Transducer-Arrays, Figuren 3 bis 14 die Schnittdarstellung verschiedener Varianten eines Transducer-Arrays gemäß Figur 1/2, Figur 15 eine Messvorrichtung unter Verwendung eines Transducer-Arrays aus Figur 3 bis 14, Figur 16 Ergebnisse der Anwendung eines Transducer-Arrays als ionenselektiver Sensor und Figur 17 Ergebnisse der Anwendung eines Transducer-Arrays entsprechend den Figuren 1 bis 14 als DNA-Sensor.

Die Figuren 1 und 2 zeigen die Vorder- und Rückseite eines Sensorarrays bestehend aus einem Metallsubstrat 1 und einer Isolatorschicht 2. Auf der Vorderseite sind beispielsweise kreisförmige Vertiefungen 3_i , die als Kavitäten bezeichnet werden, dargestellt. Die Kavitäten 3_i entstehen durch die Strukturierung des Isolators 2. Auf dem Grund der Vertiefungen 3_i liegt die Oberfläche des Metallsubstrats frei.

Die Darstellung der Rückseite zeigt durch Striche die Auftrennung des Metallsubstrats 1 in voneinander isolierte Teile 10i. Jede Metallinsel 10i korrespondiert mit der Kavität 3i einer Isolatoraussparung auf der Vorderseite. Auf der Rückseite sind durch Punkte die möglichen Kontaktstellen für eine sog. Nadelkarte zur selektiven elektrischen Kontaktierung der Metallflächen angedeutet.

Figur 3 zeigt ein Sensorarray in Seitenansicht und im Schnitt durch eine Reihe von Elektroden bzw. Sensoren. Die Trennlinien im Metallsubstrat 1 sind durch Striche dargestellt. Darüber befindet sich der Isolator 2.

Figur 4 zeigt ein Sensorarray, bei dem die Isolatorschicht pro Metallinsel zwei Metallflächen 10i und 10i frei lässt. Eine davon kann als Elektrode und die andere zur vorderseitigen Kontaktierung genutzt werden.

Figur 5 zeigt ein Sensorarray mit zusätzlicher Isolatorschicht 4 unterhalb des Metallsubstrats 1. Die Isolatorschicht 4 dient der Stabilisierung der Messanordnung.

Figur 6 zeigt ein Sensorarray mit zwei Elektroden pro Kavität. Dazu wird das Metallsubstrat an dieser Stelle geteilt. Der entstandene Spalt wird durch eine zusätzliche Isolatorschicht 40i von der Unterseite her verschlossen. Dabei bleiben Kontaktflächen frei, die Messelektroden definieren. Eingetragen sind abwechselnd eine Arbeitselektrode WE und eine Gegenelektrode CE.

Figur 7 zeigt, dass mehrere Kavitäten vom gleichen Elektrolyten benetzt werden. Dann kann die Metallfläche der einen gegen die Metallfläche einer anderen Kavität polarisiert werden.

Figur 8 zeigt, dass eine der offenen Metallflächen auf der Vorderseite von einer dünnen Silber/Silberchloridschicht be-

deckt ist. Diese Schicht 40₁ kann zusammen mit zwei weiteren benetzten Metallflächen in einer Dreielektrodenanordnung als Arbeitselektrode (WE), Counterelektrode (CE) und Referenzelektrode (Ref) mit einem Potentiostaten verbunden werden.

5

Figur 9 zeigt die Verwendung einer externen Referenzelektrode 15, die in den gemeinsamen Elektrolyten eintaucht, der auch mindestens zwei Metallflächen benetzt. Zusammen können sie in einer Drei-Elektrodenanordnung mit einem Potentiostaten verbunden werden.

10

Figur 10 zeigt eine externe Referenzelektrode, die in den gleichen Elektrolyten eintaucht, der auch mehrere Kavitäten mit jeweils zwei Elektroden benetzt. Die zwei Elektroden bilden zusammen mit der Referenzelektrode jeweils eine Dreielektrodenanordnung.

15

Figur 11 zeigt, dass die Elektrolyträume in jeder Kavität von den anderen Elektrolyträumen elektrisch isoliert sein können.

20

Figur 12 zeigt, dass ein elektrischer Leiter, der über den Kavitäten liegt als gemeinsame Gegenelektrode CE für alle Kavitäten verwendet werden kann. Jeweils zwischen der Metallfläche in der Kavität und der gemeinsamen Gegenelektrode wird eine Spannung angelegt.

Figur 13 zeigt, dass bei einem Sensorarray mit zwei Elektroden pro Kavität 3_i und 3_i eine der beiden Elektroden mit Silber/Silberchlorid (Ag/AgCl) beschichtet ist. Diese beschichtete Elektrode wird als Referenzelektrode zusammen mit der zweiten Elektrode in der Kavität als Arbeitselektrode und der bedeckenden Gegenelektrode in einer Dreielektrodenanordnung mit einem Potentiostaten verbunden.

30

Figur 14 zeigt, dass eine die Messanordnung bedeckende Elektrode auf der Elektrolytseite mit Silber/Silberchlorid beschichtet ist. Das Sensorarray hat pro Kavität zwei Elektro-

35

den. Damit lässt sich mit diesen zwei Elektroden als Arbeitselektrode WE und Gegenelektrode CE und der Deckelektrode als Referenzelektrode eine Drei-Elektrodenanordnung realisieren.

- 5 Aus der Figur 15 ist die Messvorrichtung im Einzelnen ersichtlich. Dabei wird von der Methodik des "gepulsten" Redox-Cyclings gebraucht gemacht, das im Einzelnen in einer parallelen Anmeldung der Anmelderin mit gleicher Anmeldepriorität und der Bezeichnung "Verfahren zur Messung der Konzentration
10 oder Konzentrationsänderung einer redoxaktiven Substanz und zugehörige Vorrichtung" beschrieben.

- Außer durch ein Transducer-Array 100, das anhand der Figuren 3 bis 14 in verschiedenen Varianten beschrieben wurde, ist
15 der Messaufbau im Wesentlichen durch einen geeigneten Potentiostaten 5 in Kombination mit einem Pulsgenerator 6 realisiert, der optional Rechteck-, Dreieck- oder Sinuspulse liefert. Durch zwei Operationsverstärker 7 bzw. 7', von denen, von denen einer mit "Ground"-Potenzial verbunden ist und ei-
20 nem definierten Messwiderstand wird der Potentiostat 5 derart konzipiert, dass geeignete Potenziale bereitgestellt werden. Dabei können die Pulslänge, die Wiederholrate und die Höhe des Potenzials vorgegeben werden. Insbesondere die Pulslängen der Messphasen und die Relaxationsphasen können separat ein-
stellbar und unterschiedlich lang sein. Auch die Potenziale können unterschiedlich groß sein.

- Dem Transducer-Array 100 sind die einzelnen Elektroden zugeordnet, die bestimmungsgemäß eine Referenzelektrode RE (= re-
30 ference electrode), eine Gegenelektrode CE (= counter electrode) und wenigstens eine Messelektrode WE (= working electrode) realisieren. Diese Elektroden sind als Drei-Elektrodenanordnung mit dem Potentiostaten 5 verbunden. Das Signal des Potentiostaten 5 wird an eine in Figur 9 nicht im Einzel-
35 nen dargestellte Signalverarbeitungseinheit angeschlossen, mit welcher eine Auswertung unter Berücksichtigung obiger Ausführungen zur Messmethodik und Genauigkeit erfolgt. Im

Allgemeinen ergibt sich $U_{out} \sim I$ als zur Auswertung des in Figur 15 dargestellten Signalverlaufes.

In spezifischer Weiterbildung wird ein Transducer-Array gemäß einem der vorstehend beschriebenen Beispiele als ionenselektiver Sensor verwendet: Für diese Beispielanwendung kommt ein Sensorarray bestehend aus einer Metall- und einer Isolatorschicht zum Einsatz. Der Durchmesser der Kavitäten beträgt 0,8 mm, die Tiefe 90 μm und der Abstand zwischen zwei benachbarten Elektroden 1 mm. Die Elektrodenoberflächen sind mit einer 2,3 μm dicken Goldschicht bedeckt. Insgesamt besteht das Array aus 4 Elektroden, wovon eine als Silberchlorid-Referenzelektrode ausgeführt ist. Die anderen 3 Elektroden wurden mit einer ionenselektiven Membran beschichtet. Als Beispiel sei hier die Ammonium-selektive Membran angeführt.

Die Membranzusammensetzung entsprach der Empfehlung von Fluka:

1.00 wt% Ammonium Ionophore I (Fluka 09877)
 20 33.00 wt% Poly(vinyl chlorid) high molecular weight (Fluka 81392)
 66.00 wt% Dibutyl sebacate (Fluka 84838)

Insgesamt 100 mg der Reagenzien wurden in 550 μl eines Gemischs aus Cyclohexan und THF im Verhältnis 8:2 gelöst. Von dieser Lösung wurden jeweils 35 nl , 45 nl und 60 nl in die drei Sensorkavitäten gespottet, so dass drei Membranen unterschiedlicher Dicke entstanden sind. Sie wurden mehrere Stunden an der Luft getrocknet.

Das Sensorarray wurde in einen 100 μm tiefen Durchflusskanal eingesetzt und dann Lösungen verschiedener NH_4NO_3 -Konzentrationen darübergepumpt. Die Lösungen enthielten außerdem 100 mM Tris(hydroxymethyl)aminomethan/Salzsäure zur Pufferung bei pH8. Über einen hochohmigen Widerstandsmesser wurde dann die Potenzialdifferenz zwischen den membranbeschichteten Elektroden und der Bezugselektrode gemessen. Die folgende Ab-

bildung zeigt die Potenzialänderung des Sensors als Funktion der NH_4^+ -Konzentration für die drei Membrandicken.

Die Figur 16 zeigt die Abhängigkeit des Potenzials von der Säurekonzentration. Aufgetragen auf der Abszisse ist die Konzentration von NH_4NO_3 in mol/l und auf der Ordinate das elektrochemische Potenzial ϕ gegenüber einer Ag/AgCl-Elektrode. Die Graphen 161 bis 164 zeigen Kennlinien für unterschiedliche Membranen.

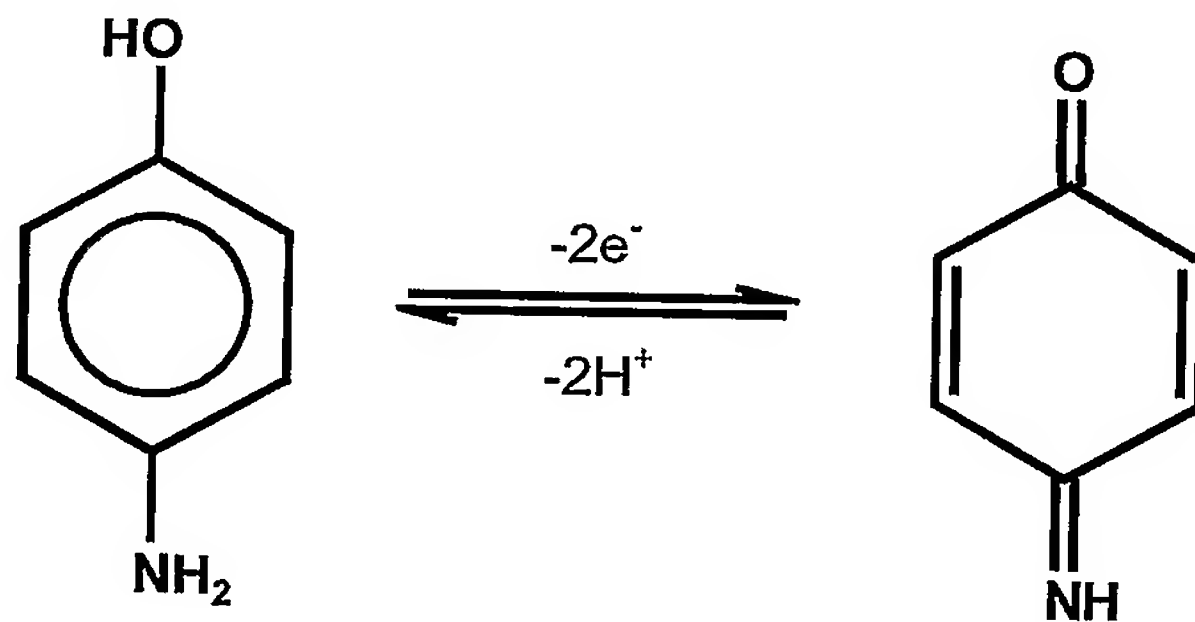
Die Steigungen der Ausgleichsgeraden betragen von der dünnsten zur dicksten Membran 54 mV, 52 mV und 48 mV. Diese Werte liegen etwas unterhalb des theoretischen Werts bei Raumtemperatur von 59 mV.

In anderer Weiterbildung wird ein Transducer-Array gemäß einem der anhand der Figuren 3 bis 14 angegebenen Beispiele als DNA-Sensor verwendet:

Das verwendete Sensorarray entspricht der in vorangehenden Beispiel bereits beschriebenen Anordnung, wobei vier Elektrodenflächen verwendet werden. Eine der Elektrodenflächen ist als Referenzelektrode Ref ausgeführt, eine andere wird als Gegenelektrode CE (Counter Electrode) verwendet und die zwei weiteren Elektrodenflächen dienen als Messelektroden bzw. sog. Arbeitselektrode WE (Working Electrodes). Auf der einen Arbeitselektrode wird eine synthetische Oligonukleotidsequenz der Länge 25 mittels einer endständigen Thiolgruppe an der Goldoberfläche verankert. Die zweite Messelektrode bleibt frei.

Es wurden beide Oberflächen mit einer Lösung von 1 mg Rinder-serumalbumin pro ml 15 Minuten inkubiert und anschließend das Sensorarray in einen 100 μm tiefen Durchflusskanal eingesetzt. Zunächst werden 10 μl einer 10 μM biotinilierten Zielsequenz innerhalb von ca. 5 Minuten über die Elektroden gepumpt. Dann wird nach einem Waschschrift eine Lösung von

Streptavidin markierter alkalischer Phosphatase darüber gegeben. Das Waschen erfolgt mit einer Pufferlösung von 100 mM Tris(hydroxymethyl)aminomethan titriert auf pH8 mit Salzsäure, 130 mM NaCl. Nach abermaligem Waschen wird eine 2 mM Lösung des Enzymsubstrats Paraaminophenylphosphat (pAPP) in der Pufferlösung über das Sensorarray gepumpt. Bei Anwesenheit des Enzyms alkalische Phosphatase wird das Enzymsubstrat pAPP zu Paraaminophenol (pAP) umgesetzt. Das pAP wird bei entsprechendem Potenzial an der Elektrode zu Chinonimin oxidiert. Dieser Vorgang lässt sich auch umkehren, wobei das Chinonimin zu pAP wieder reduziert wird. Es gilt:



Paraaminophenol

Chinonimin

Referenzelektrode, Gegenelektrode und jeweils eine der beiden Messelektroden befinden sich in einer Dreielektrodenanordnung an einen Potentiostaten angeschlossen. Aufgrund der großen Elektrodenflächen würde ein potentiostatisches Messverfahren zu einer starken Verarmung des pAP führen. Es wird daher ein geeignetes Pulsverfahren verwendet.

Zu Beginn der Messung ist die Positivprobe, also die Elektrode mit der Fängersequenz angeschlossen. Die Lösung mit dem Enzymsubstrat fließt zunächst über die Negativprobe, dann über die Positivprobe. Durch die Fließbewegung wird von dem Enzym gebildetes pAP von den Elektroden weggespült, so dass bei eingeschalteter Pumpe der Strom konstant und gering ist. Wird nun die Pumpe gestoppt steigt die pAP-Konzentration durch die Enzymaktivität mit der Zeit an. In der Messung

zeigt sich dies durch einen starken Anstieg des Stromsignals mit 20 nA/s. Wird die Pumpe wieder eingeschaltet, so sinkt das Signal wieder auf den ursprünglichen Wert. Dieser Vorgang kann beliebig oft wiederholt werden.

5

In Figur 17 ist der Verlauf des Messstromes bei Pumpe "on"/ "stopp" am Sensor mit positiver und negativer Probe gezeigt. Aufgetragen ist auf der Abszisse die Zeit t in s und auf der Ordinate der Strom I in nA. Der Graph 171 zeigt den Messstrom im Verlauf bei einer experimentellen Untersuchung.

10

Bei $t = 400\text{s}$ wurde auf die Negativprobe umgeschaltet. Hier sinkt der Strom beim Stoppen der Pumpe zunächst, bleibt dann kurze Zeit konstant und steigt dann langsam an. Dieser Anstieg wird durch die Diffusion von pAP von der positiven zur negativen Probe hin verursacht. Bei Pumpe on kommt ein Peakstrom hinzu, da der Elektrolyt zunächst von der positiven zur negativen Probe fließt und damit eine erhöhte pAP-Konzentration zur benachbarten Elektrode transportiert. Insgesamt ist die Diskriminierung von positiver und negativer Probe sehr gut.

15

20

Patentansprüche

1. Elektrochemisches Transducer-Array, mit folgenden Merkmalen:

- 5 - Es ist wenigstens ein flexibles, planares Metallsubstrat (1) vorhanden, auf dem mindestens ein flexibler Isolator (2, 3) mit fester Verbindung von Metalloberfläche und der Isolatoroberfläche angeordnet sind,
- 10 - das Metallsubstrat (1) ist derart strukturiert, dass elektrisch gegeneinander isolierte Metallbereiche (11_i) vorliegen und
- 15 - der auf dem Metallsubstrat (1) befindliche Isolator (2, 3) ist derart strukturiert, dass offene Metalloberflächen (12_i) als Sensorflächen auf der Isolatorfläche (21) verbleiben.

2. Transducer-Array nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Isolatorschicht (2) Kavitäten (3_i) über den Sensorflächen (101_i) ausbildet.

20 3. Transducer-Array nach Anspruch 1 oder Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass elektrische Kontaktierungen vorhanden sind, wobei die Kontaktierungen und die Sensorflächen (12_i) auf gegenüberliegenden Seiten der Metall/Isolator-Verbundes (1, 2) liegen.

30 4. Transducer-Array nach Anspruch 1 oder Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass elektrische Kontaktierungen vorhanden sind, wobei die elektrischen Kontaktierungen und die Sensorflächen auf der gleichen Seite des Metall/Isolator-Verbundes (1, 2) liegen.

35 5. Transducer-Array nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass auf beiden Seiten des Metallsubstrates (1) eine Isolatorschicht (2, 4) vorhanden ist, wobei die Isolatorschicht (4) auf einer Seite des Metallsubstrates (1) geschlossen ist.

6. Transducer-Array nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass eine einzelne Sensorfläche (101_i) mindestens zwei elektrisch getrennte Metallbereiche
5 enthält.
7. Transducer-Array nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass auf der Kontaktseite eine zusätzliche Isolatorschicht (4, 40_i) sich ausbildende Spalte zwischen beiden Metallberei-
10 chen (10_i) verschließt.
8. Transducer-Array nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass die zusätzliche Isolatorschicht (4, 40_i) Metallbereiche (10_i) zur elektrischen Kontaktierung frei lässt.
15
9. Transducer-Array nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Sensorflächen (101_i) aus einem Edelmetall oder einer Edelmetalllegierung bestehen.
- 20 10. Transducer-Array nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Sensorflächen (101_i) mit einem Edelmetall oder einer Edelmetalllegierung beschichtet sind.
11. Transducer-Array nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass Elektroden auf Graphitbasis, beispielsweise als Kohlepastenelektrodevorhanden sind.
12. Transducer-Array nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass wenigstens eine der Sensorflä-
30 chen (101_i) mit Silber/Silberchlorid beschichtet ist.
13. Transducer-Array nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass ein Elektrolyt vorhanden ist,
35 der mehrere Sensorflächen (101_i) benetzt.

14. Transducer-Array nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens zwei Sensorflächen (101_i , 101_{i+1}) mit Spannung beaufschlagbar sind.

5 15. Transducer-Array nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass wenigstens zwei Sensorflächen (101_i , 101_{i+1}) und eine mit Silberchlorid beschichtete Sensorfläche (101_k) als Drei-Elektrodenanordnung mit einem Potentiostaten (5) verbindbar sind, wobei die mit Silberchlorid beschichtete Sensorfläche (101_k) als Referenzelektrode dient.

15 16. Transducer-Array nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass eine separate Referenzelektrode (15) vorhanden ist, die in einen Elektrolyten eintaucht.

17. Transducer-Array nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens zwei Sensorflächen (12_i , 12_{i+1}) und die separate Referenzelektrode (15) mit einem Potentiostaten (5) verbindbar sind.

20 18. Transducer-Array nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, dass die elektrisch getrennten Metallbereiche (10_i , 10_{i+1}) mit Sensorflächen (101_i , 101_{i+1}) mit Spannung beaufschlagbar sind.

30 19. Transducer-Array nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, dass die elektrisch getrennten Metallbereiche (10_i) einer Sensorfläche (101_i) und die Referenzelektrode (15) als Drei-Elektrodenanordnung mit einem Potentiostaten (5) verbindbar sind.

20. Transducer-Array nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Kavitäten (3_i) biochemische Erkennungsschichten beinhalten.

35

21. Transducer-Array nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Elektrolyträume in einzelnen Kavitäten (3_i) voneinander getrennt sind.
- 5 22. Transducer-Array nach Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, dass eine separate Metallfläche die Kavitäten (3_i) verschließt.
- 10 24. Transducer-Array nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, dass die Sensorflächen (101_i) mit einer Spannung gegenüber der zusätzlichen Metallfläche beaufschlagbar sind.
- 15 25. Transducer-Array nach einem der einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass pro Kavität (3_i) eine zusätzliche Sensorfläche vorhanden ist, die als Referenzelektrode dient.
- 20 26. Transducer-Array nach einem der einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die die Kavitäten (3_i) verschließende Metallfläche mit Silberchlorid beschichtet ist und als Referenzelektrode dient.
27. Verwendung eines Transducer-Arrayss nach Anspruch 1 oder einem der weiteren Ansprüche als ionenselektiver Sensor.
28. Verwendung eines Transducer-Arrays nach Anspruch 1 oder einem der weiteren Ansprüche als Biosensor.
- 30 29. Verwendung des Transducer-Arrays nach Anspruch 27 oder Anspruch 28, wobei die Sensorflächen eine hohe katalytische Aktivität haben.

Zusammenfassung

Elektrochemisches Transducer-Array und dessen Verwendung

- 5 Elektrochemische Transducer-Arrays sind bekannt. Erfindungs-
gemäß ist wenigstens ein flexibles, planares Metallsubstrat
(1) vorhanden, auf dem mindestens ein flexibler Isolator (2)
mit fester Verbindung von Metalloberfläche und der Isolator-
oberfläche angeordnet ist, wobei das Metallsubstrat (1) und
10 der darauf befindliche Isolator derart strukturiert sind,
dass elektrisch gegeneinander isolierte Metallflächen vorlie-
gen, die als Sensorflächen (12_i) dienen.

FIG 1

15

20

FIG 1

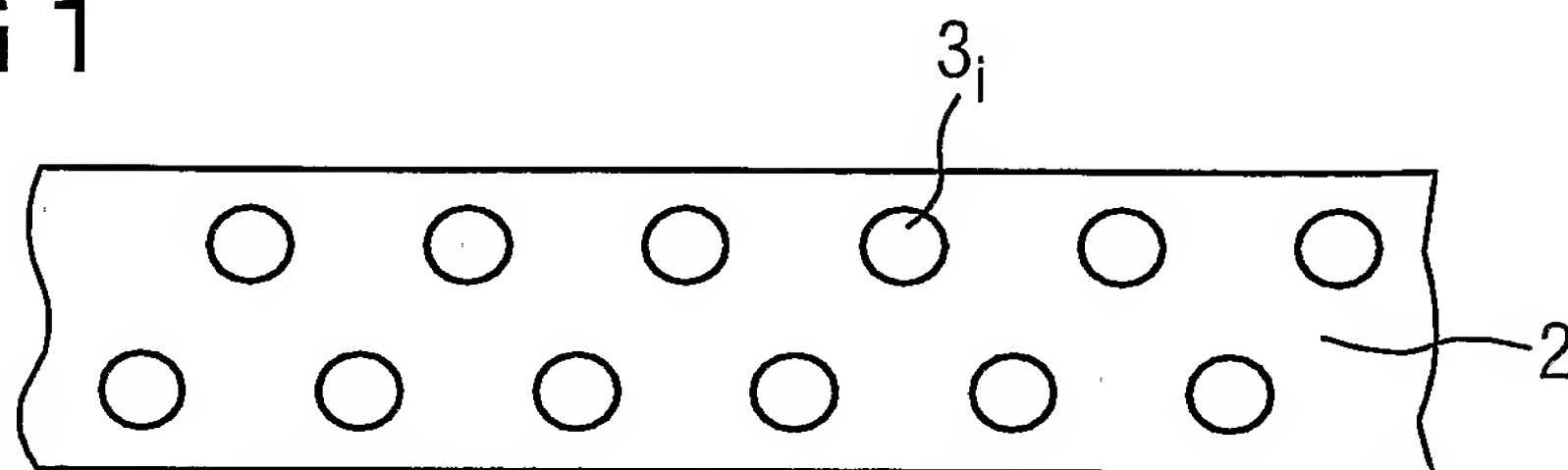


FIG 2

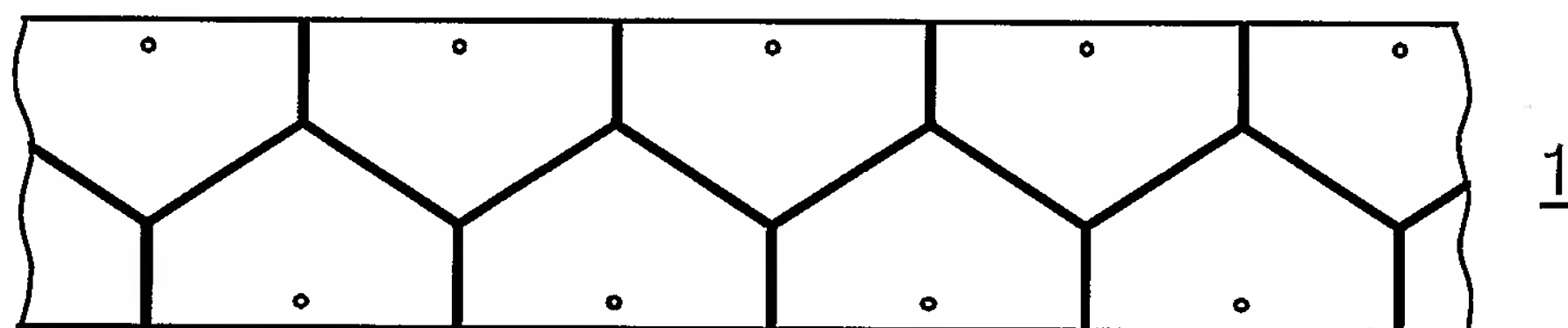


FIG 3

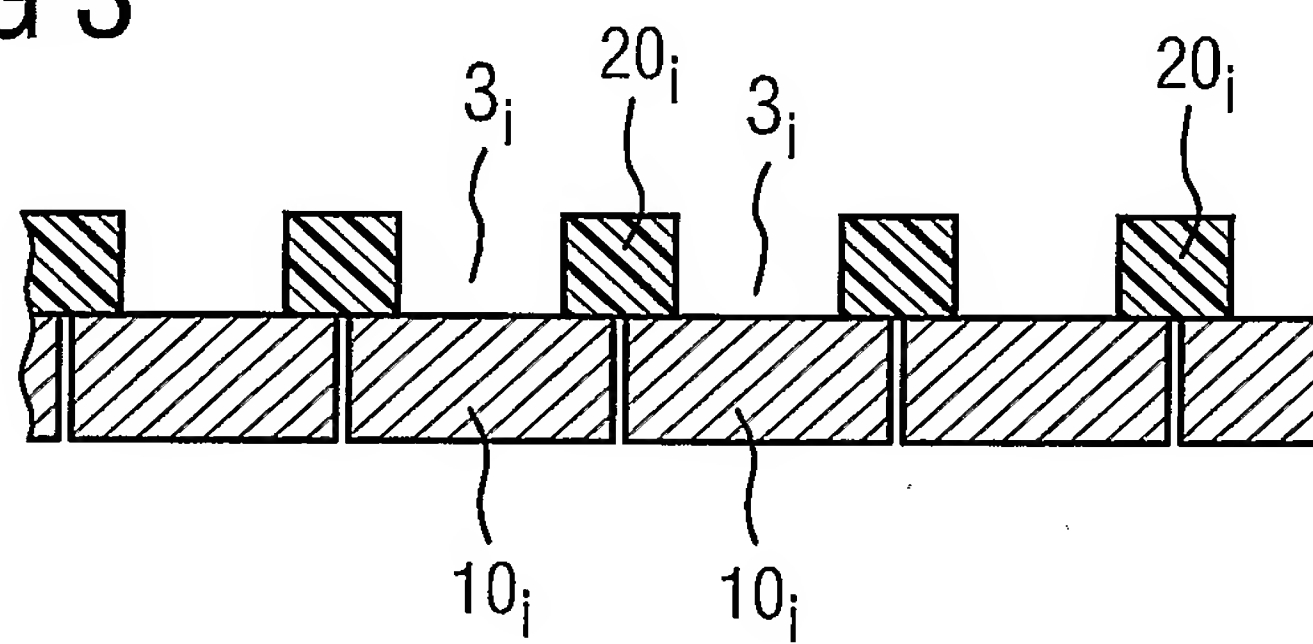


FIG 4

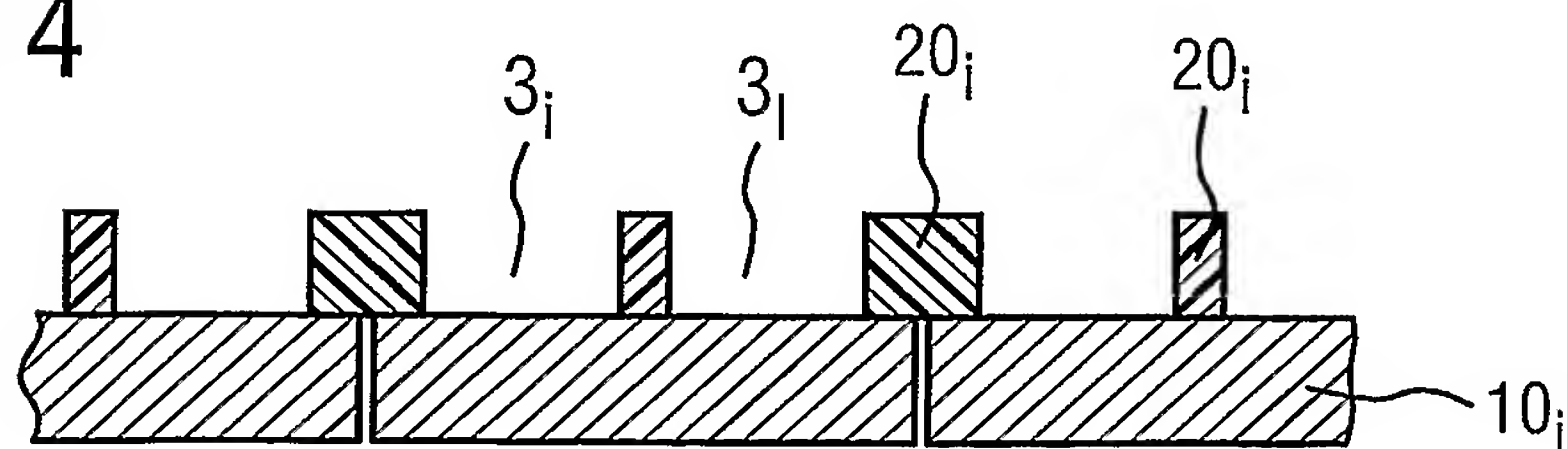


FIG 5

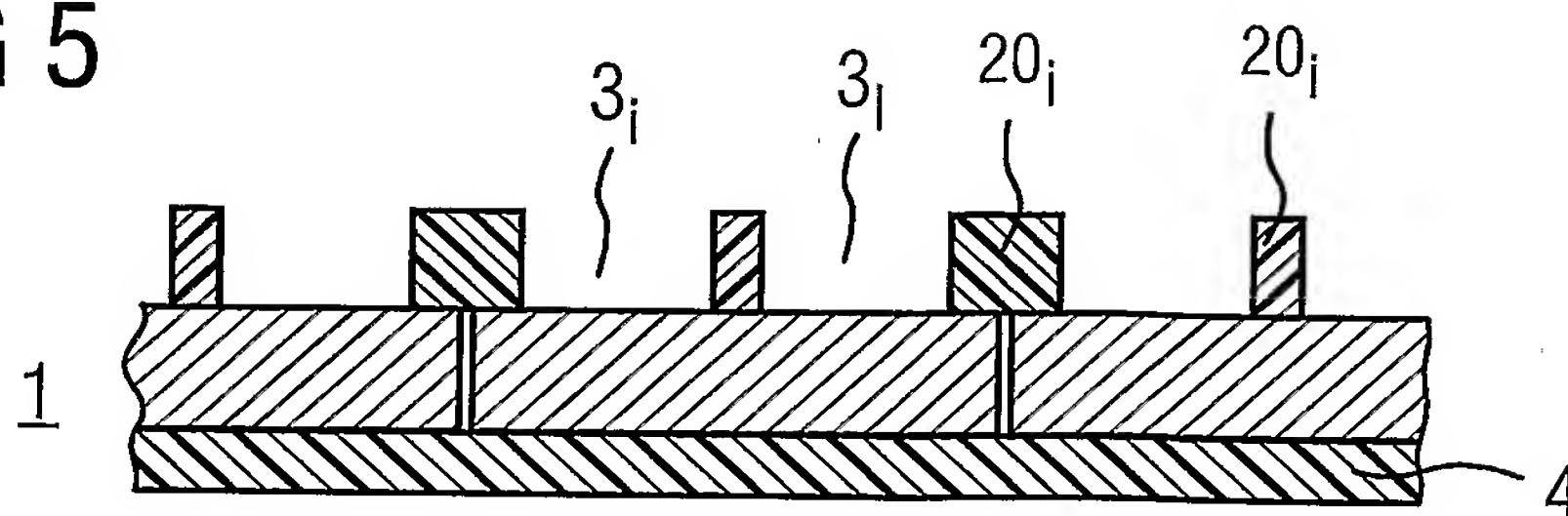


FIG 6

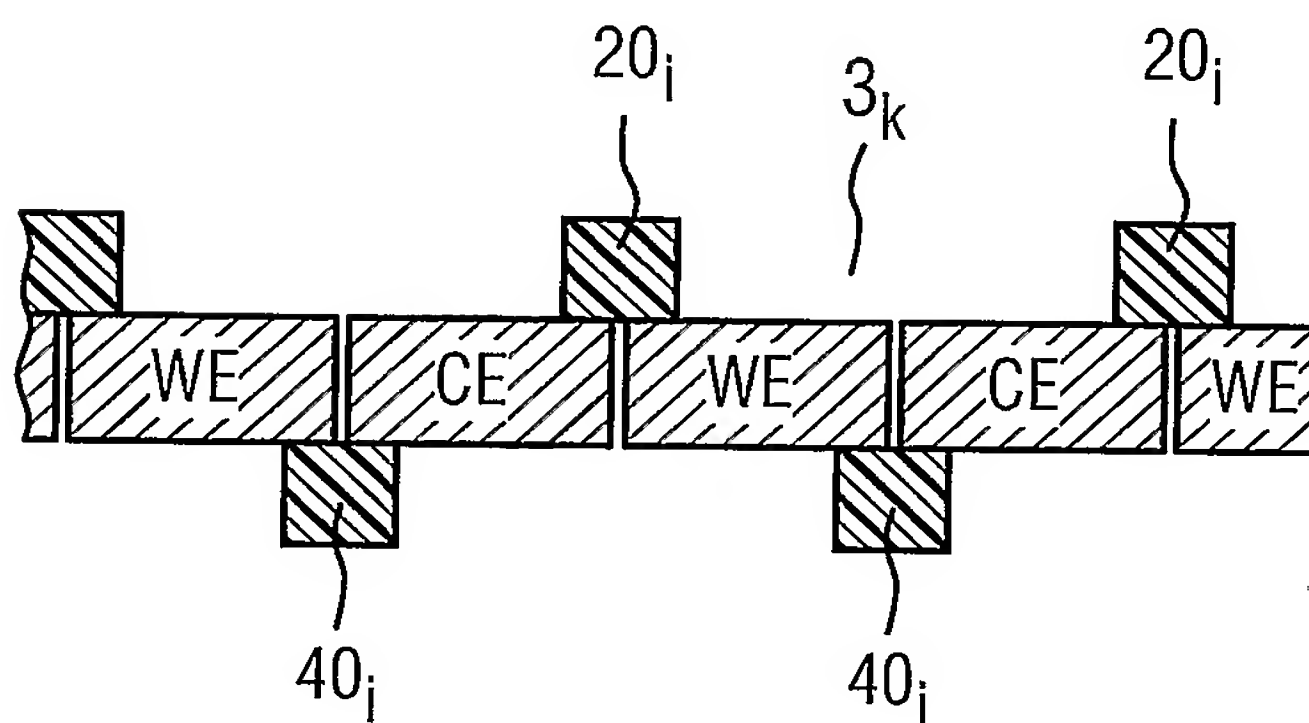


FIG 7

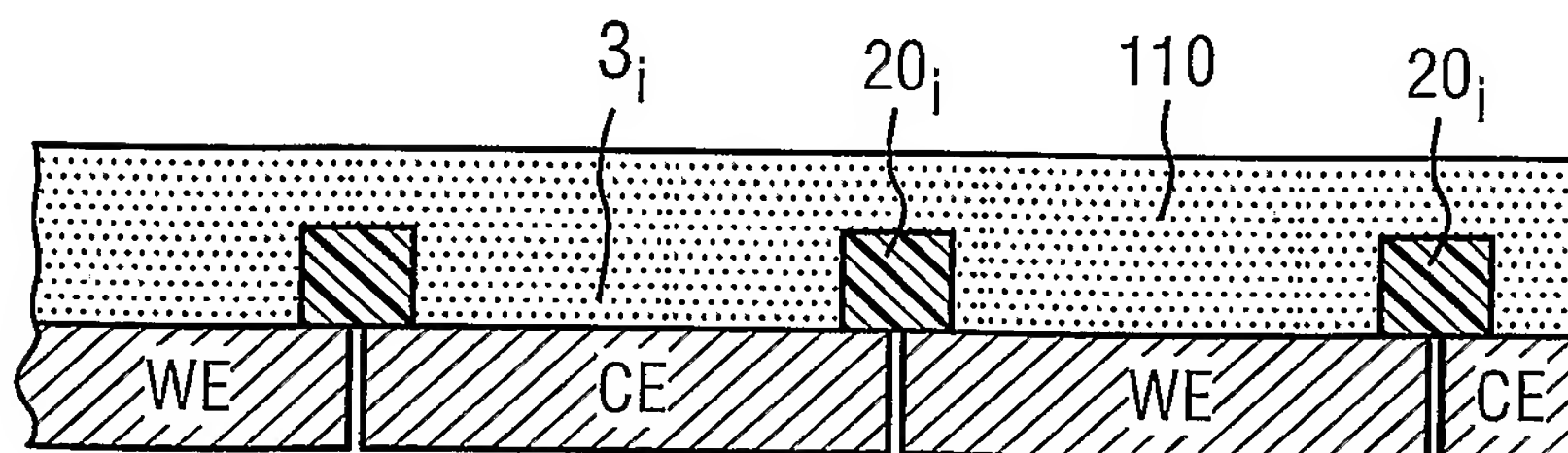


FIG 8

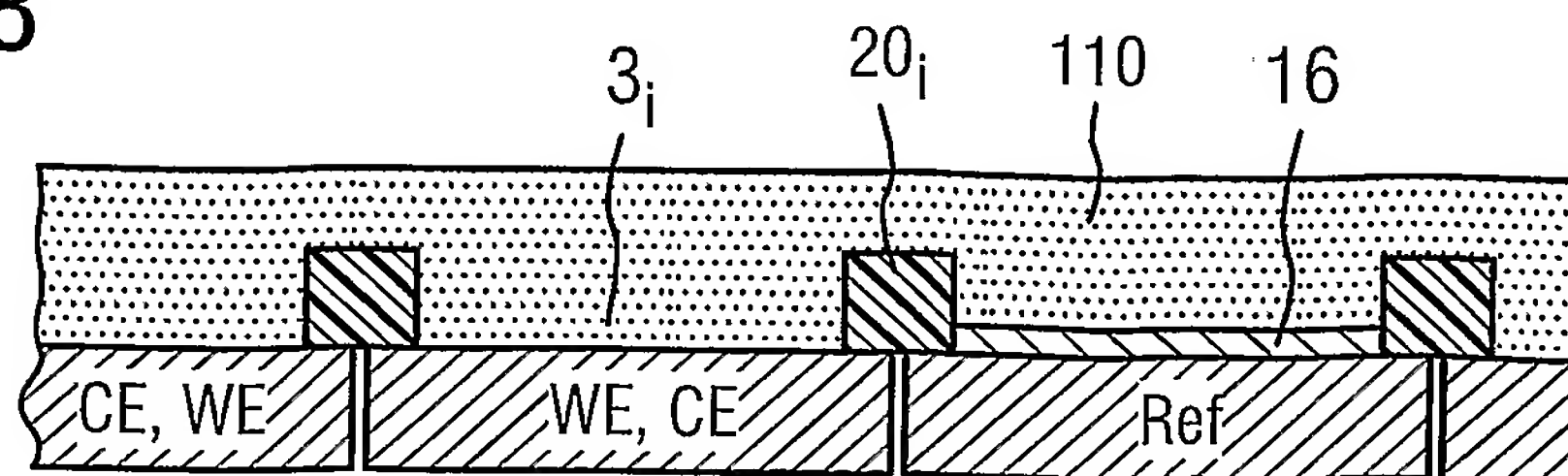


FIG 9

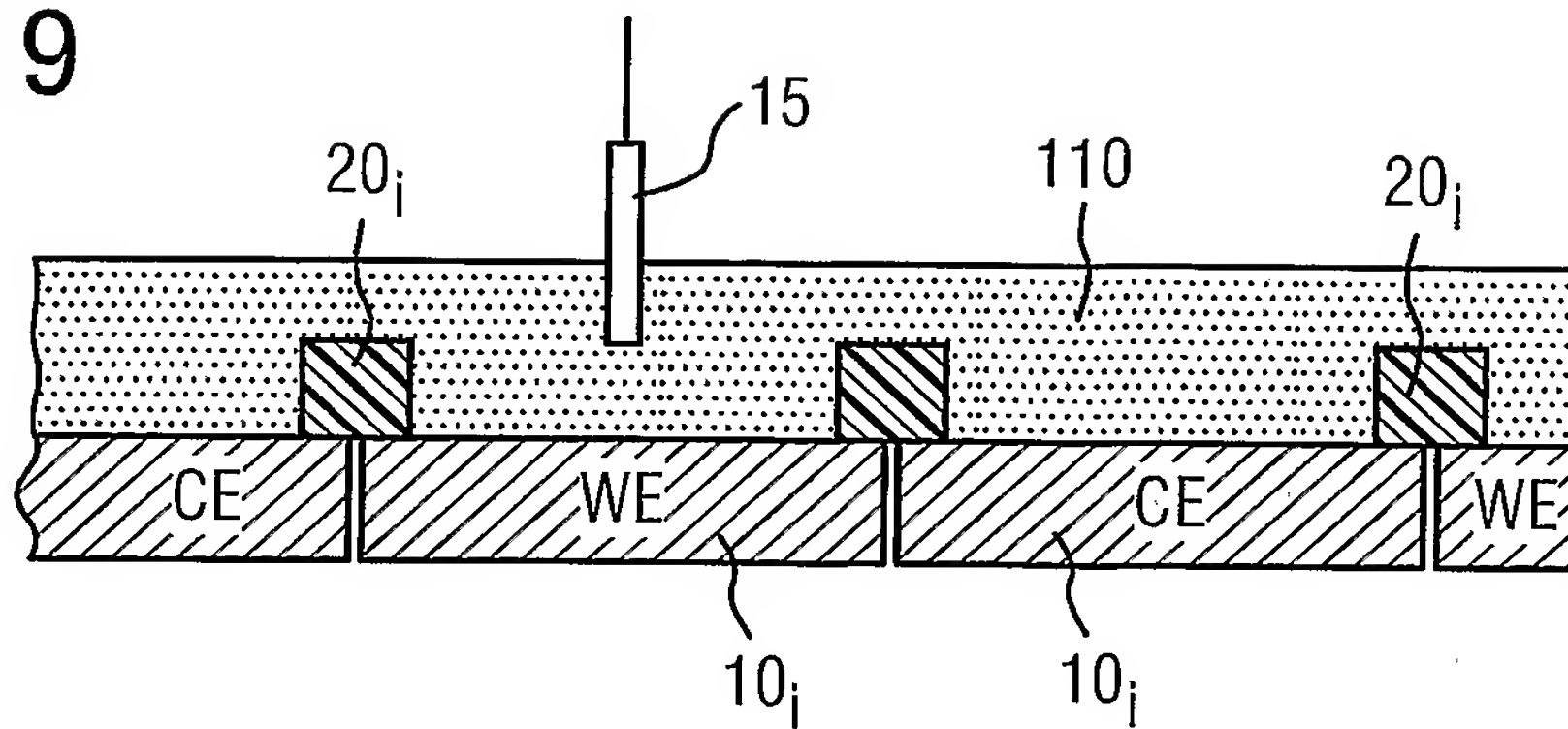


FIG 10

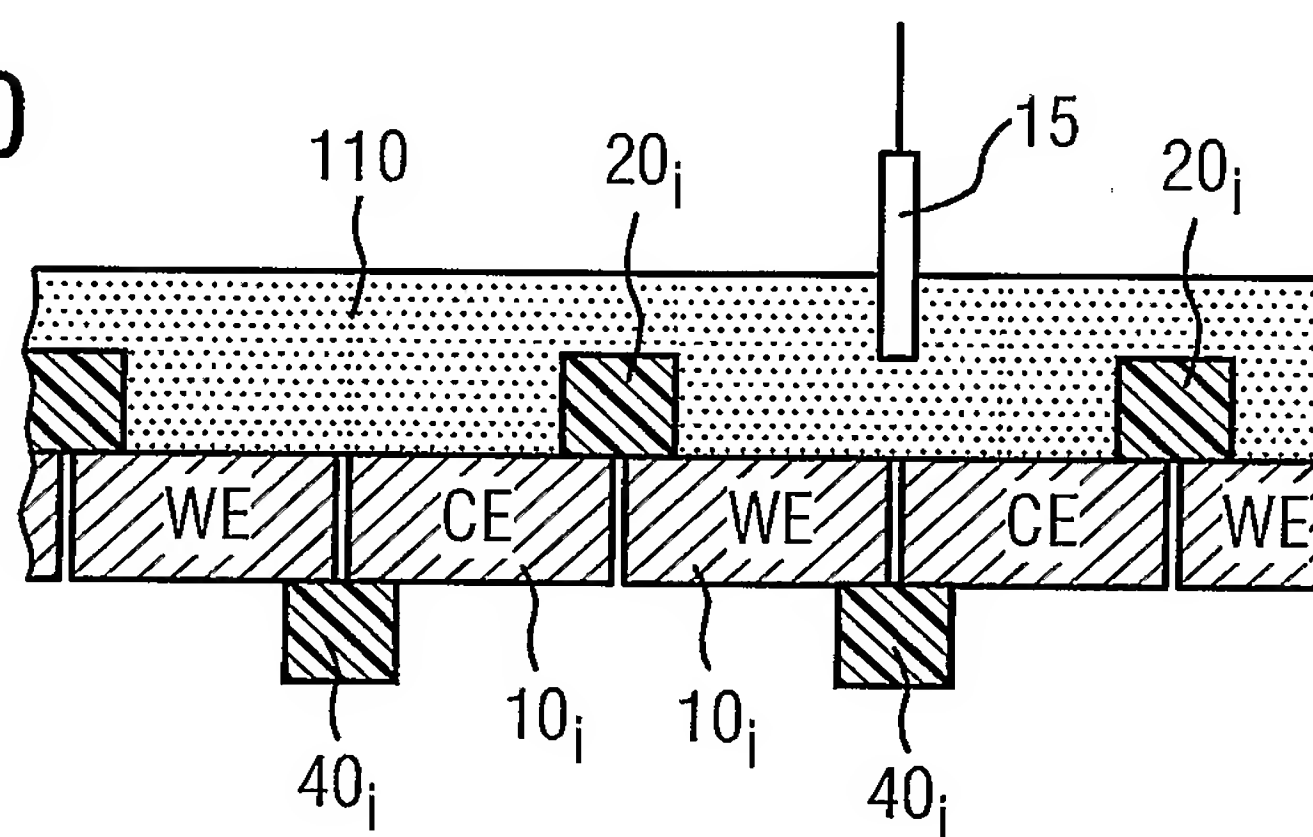


FIG 11

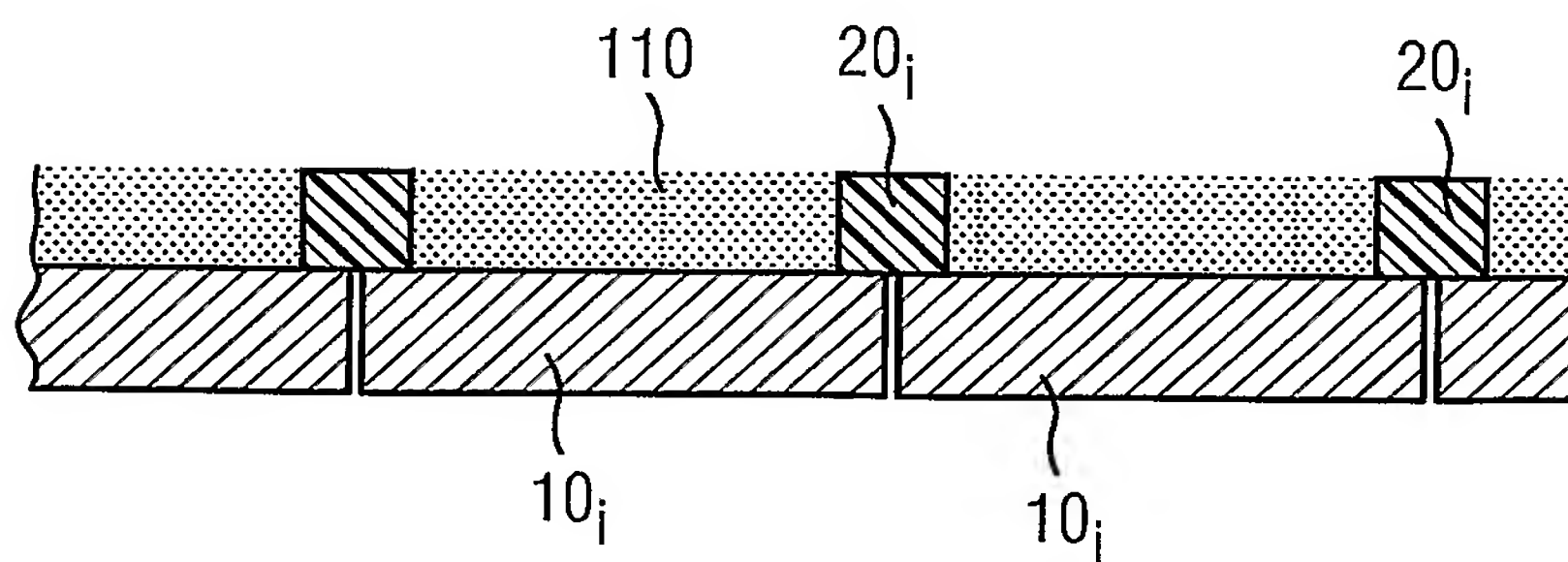


FIG 12

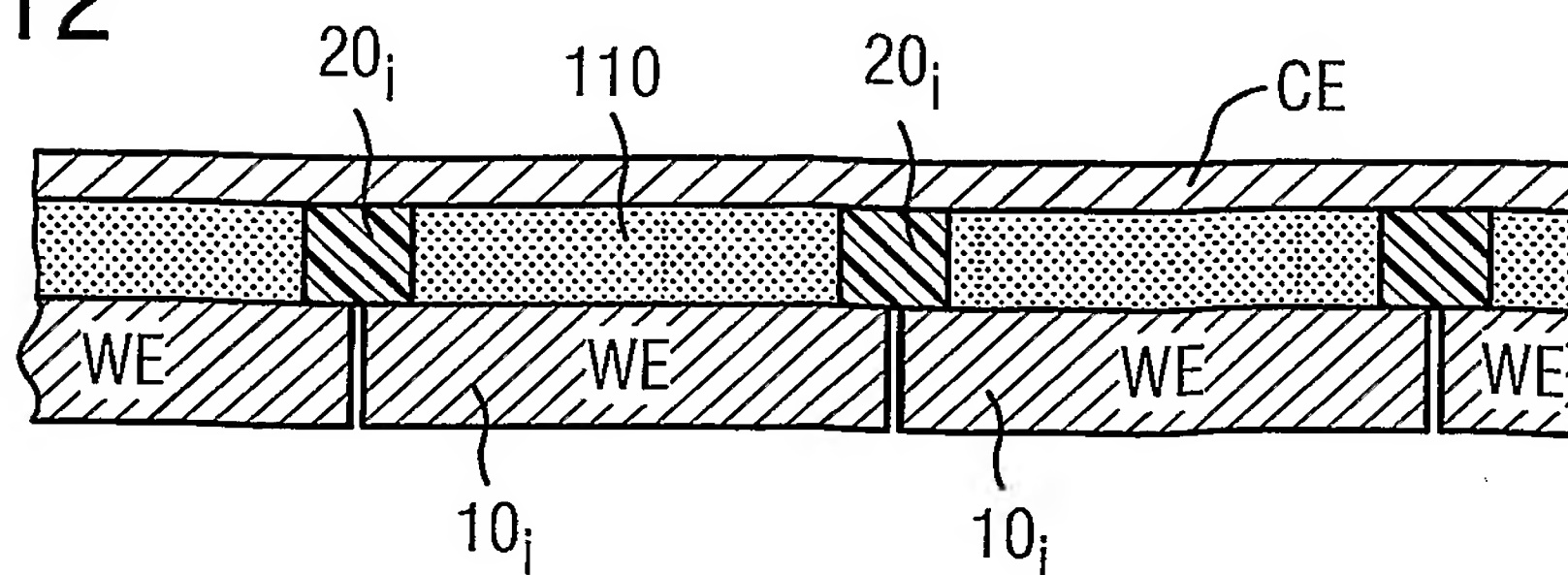


FIG 13

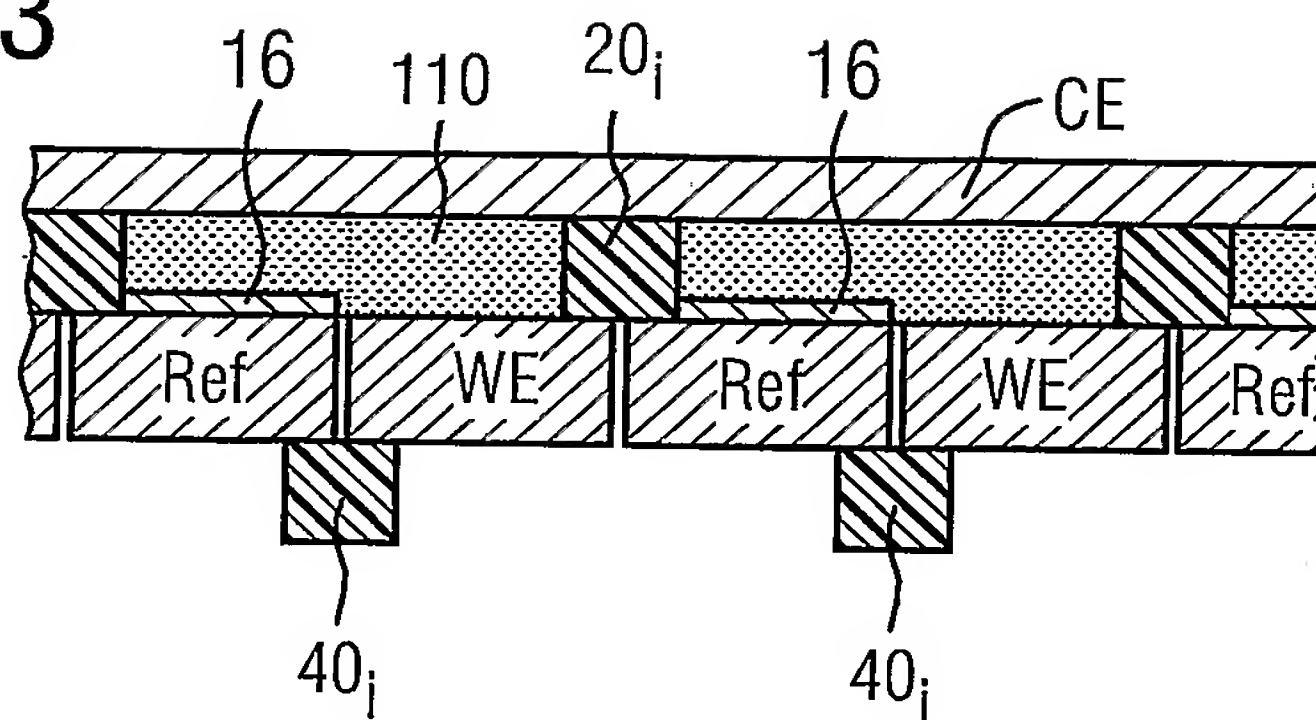


FIG 14

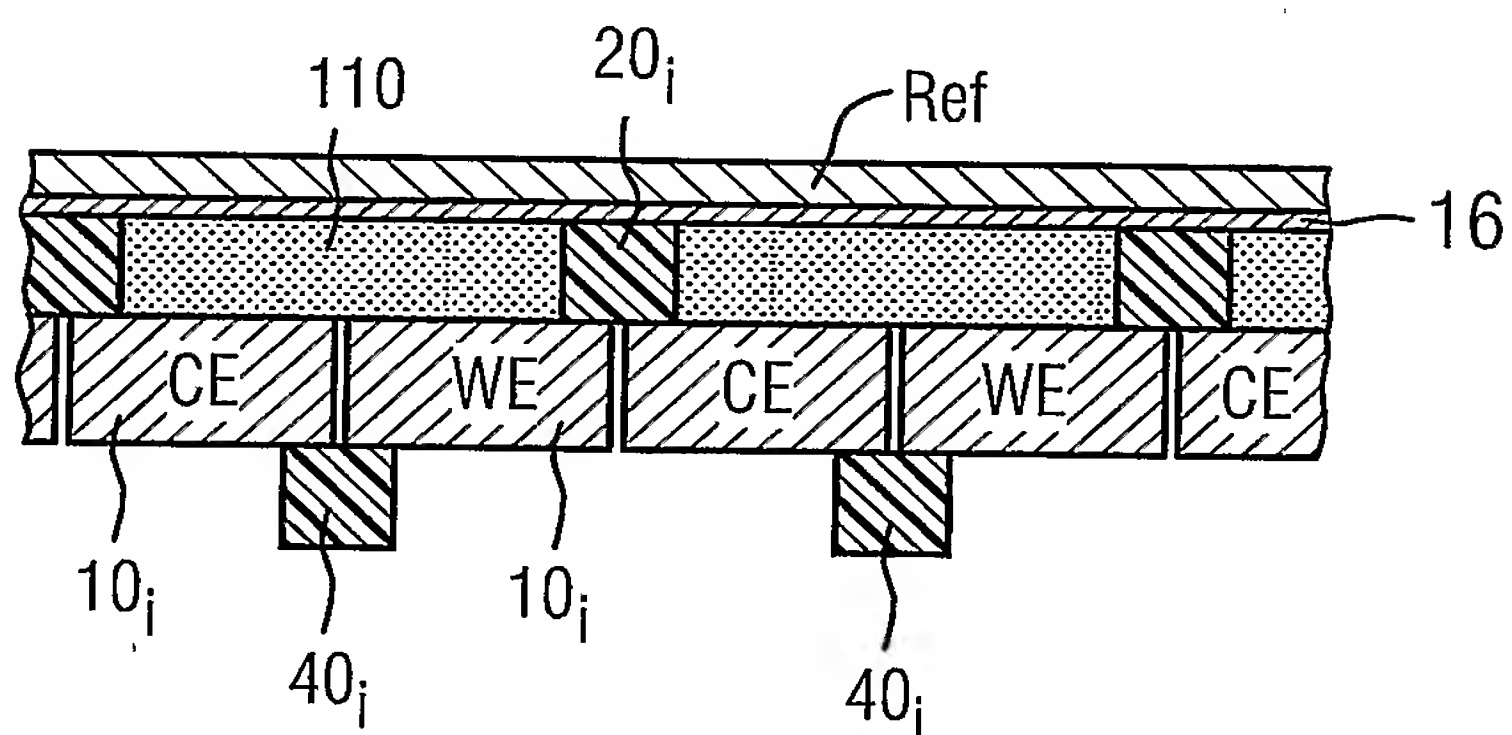


FIG 16

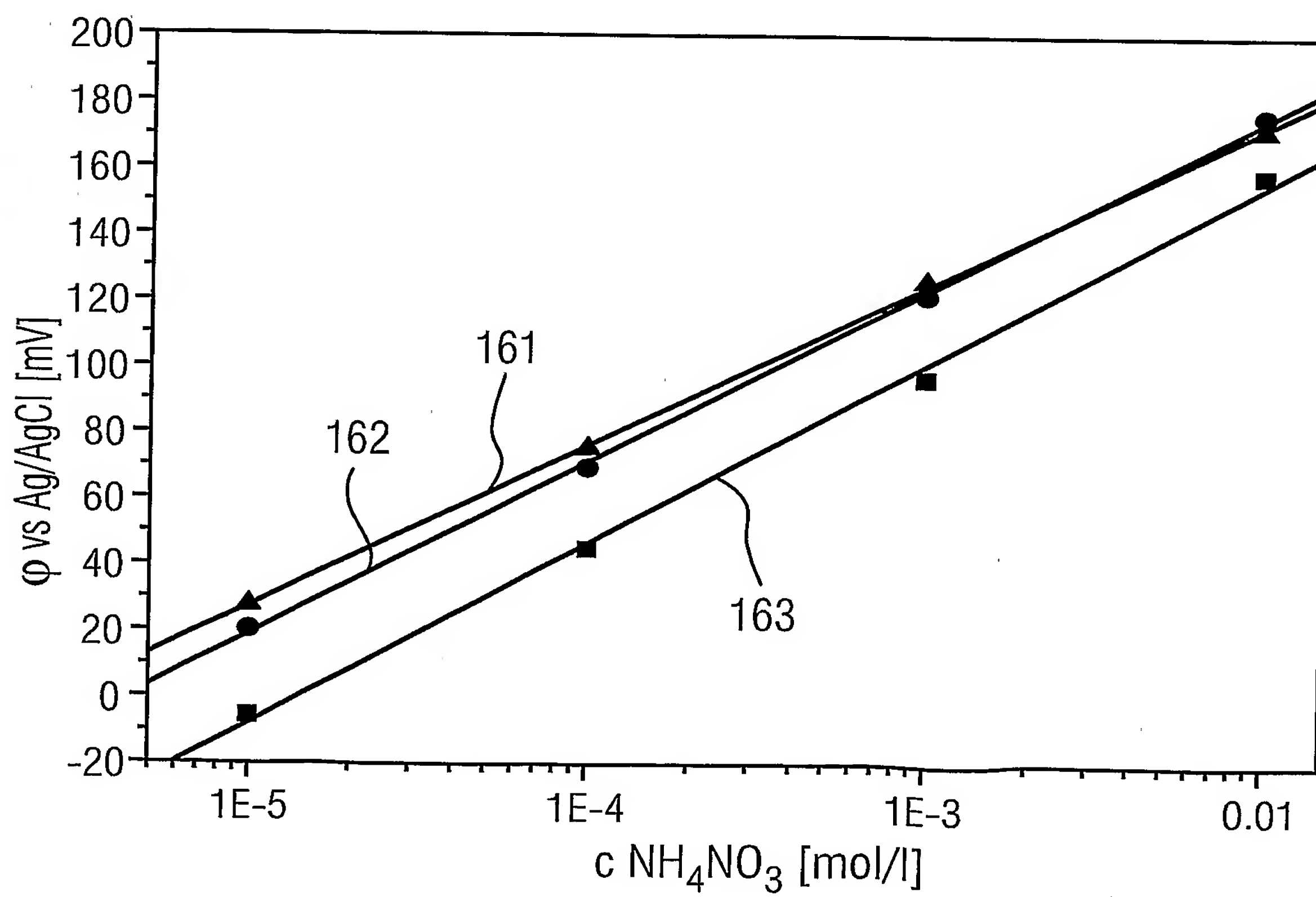


FIG 17

